Caldasia 24(2) 2002: 269-275

ANATOMÍA FOLIAR DE *PILOCARPUS GOUDOTIANUS* TUL. (RUTACEAE)

Leaf anatomy of *Pilocarpus goudotianus* Tul. (Rutaceae)

Luis Hermoso Gallardo
Marcia Escala Jiménez
Laboratorio de Morfología y Anatomía Vegetal, Instituto de Biología Experimental, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela. Apto 47114. Los Chaguaramos. Caracas 1041. Venezuela. lhermoso@hotmail.com. mescala@reacciun.ve

RESUMEN

El género *Pilocarpus* (Rutaceae), distribuido en la región neotropical, constituye un recurso de gran importancia en el campo de la medicina, como materia prima para la obtención del nitrato de pilocarpina, el cual se utiliza en el tratamiento del glaucoma, y se obtiene de las hojas de estas plantas. Este estudio permitió la caracterización anatómica de la hoja de *Pilocarpus goudotianus* Tul., encontrándose rasgos xeromorfos, tales como cutícula gruesa, paredes epidérmicas externas cutinizadas, alta densidad estomática y casquetes de esclerénquima rodeando los haces vasculares. Estos rasgos podrían considerarse como adaptaciones anatómicas al ambiente seco donde esta especie se desarrolla.

Palabras clave. *Pilocarpus*, Rutaceae, pilocarpina, glaucoma, anatomía foliar.

ABSTRACT

The genus *Pilocarpus* (Rutaceae), spread in the neotropical region, is an important bioresource in the field of medicine. Its leaves can be used as a raw material to obtain pilocarpine nitrate for glaucoma treatment. This study allowed us to anatomically characterize the *Pilocarpus goudotianus* Tul. leaf, which showed xeromorphic traits such as thick cuticle, externally cutinized epidermic walls, high stomatal density and vascular sheaths surrounded by sclerenchyma caps. These traits might be considered to be anatomical adaptations to the dry environment in which this species grows.

Key words. *Pilocarpus,* Rutaceae, pilocarpine, glaucoma, leaf anatomy.

INTRODUCCIÓN

Las plantas se han utilizado por el hombre como agentes terapéuticos desde hace siglos. En nuestro continente los nativos por su curiosidad innata, conocieron los productos naturales y muchas de las plantas nativas de su ambiente natural productoras de sustancias, las cuales utilizaron como analgésicos, estimulantes, digestivos etc. En las últimas décadas, se ha intensificado la investigación científica para extraer y separar sustancias con actividad biológica o terapéutica (Albornoz 1980).

Actualmente los productos naturales extraídos de plantas han encontrado un gran auge y aplicación en las investigaciones que se realizan en el campo de la medicina, siendo nuestro caso uno de éstos. La pilocarpina es el principal alcaloide que se obtiene de las hojas de arbustos sudamericanos del género *Pilocarpus*, el cual ha sido utilizado en el tratamiento del glaucoma (Goodman *et al*. 1968).

El género *Pilocarpus,* perteneciente a la familia de las Rutáceas, constituye actualmente un biorecurso de gran importancia, el cual está generando una importante entrada de divisas, a los países que lo están explotando comercialmente. El alcaloide se encuentra en los órganos vegetativos y reproductivos de la planta sin embargo, las pruebas cualitativas al respecto; demuestran que es en las hojas donde se encuentra el mayor contenido. También este género presenta cantidades apreciables de aceites, ceras y resinas (Kaastra 1982). En Venezuela se han realizado estudios del género *Pilocarpus* en el área de propagación vegetativa (Hermoso 1992) y anatomía del tallo (Hermoso & Escala 1999). También se han desarrollado estudios de extracción del alcaloide en especies venezolanas (Rodríguez 1991).

Tomando en cuenta lo antes expuesto y considerando la importancia de la anatomía de la hoja como herramienta de gran utilidad para apoyar la identificación taxonómica de muchas dicotiledóneas, se planteó como objetivo fundamental de este trabajo realizar la caracterización anatómica de la hoja de *Pilocarpus goudotianus* Tul., con el fin de contribuir con los estudios taxonómicos del género en Venezuela, para su mejor utilización en el campo de la biomedicina. Se pretende además establecer la relación de los caracteres morfoanatómicos foliares analizados con el medio ambiente donde se desarrolla la especie en estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las hojas de *Pilocarpus goudotianus* , fueron recolectadas en el caserío El Jobo, carretera Humocaro Bajo, Estado Lara, a 674 m s.n.m, con una temperatura promedio anual de 27,5 ºC , Nº 110262 (Herbario VEN 107139). El material fue fijado en FAA, durante aproximadamente una semana. Luego de este tiempo las muestras se deshidrataron en una batería de concentración ascendente de alcohol butílico y se incluyeron en paraplast. Las secciones se hicieron de 20-25 µm de espesor en un microtomo de rotación y se realizó una coloración diferencial utilizando Fast Green y Orange G (Johansen 1940). Se utilizó como medio de montaje Entellan, para su posterior observación al microscopio óptico. El estudio de la epidermis se realizó mediante cortes paradérmicos. Se hicieron mediciones de las capas celulares directamente al microscopio, mediante la utilización de un micrómetro ocular. Se realizaron 25 mediciones para cada caso y se consideró el valor promedio. Los distintos tejidos fueron registrados fotográficamente mediante una cámara Nikon Fx-35Dx.

RESULTADOS

Caracteres morfoanatómicos de *Pilocarpus goudotianus.* La morfoanatomía de la especie estudiada, se presenta como la descrita para el género *Pilocarpus.* Hojas alternas usualmente agrupadas en el extremo de las ramas, 3-foliada rara vez 1-foliada, pecíolo semiterete, alado o no, foliolos elípticos, ápices redondeados u obtusos, ápice emarginado, cara adaxial brillante y cara abaxial opaca, densamente pilosa en ambos lados. Cutícula gruesa, epidermis uniestratificada en ambas caras compuesta de células de paredes gruesas, pentagonales y hexagonales. Mesófilo bifacial, compuesto por un parénquima en empalizada biestratificado, y un parénquima esponjoso bastante desarrollado. Cavidad secretora, formada por células secretoras que contienen los aceites, resinas y el alcaloide pilocarpina. (Fig. 1). Presencia de tricomas unicelulares en ambas caras y de glándulas externas multicelulares solo en la cara adaxial (Fig. 2). Estomas tetracíticos numerosos, presentes en la cara abaxial con 4 células concéntricas. (Fig. 3). [En la tabla 1 se muestran los valores promedio de las variables cuantitativas medidas en la lámina foliar].

Abundancia de cristales de oxalato de calcio, tipo drusa distribuidos por todo el mesófilo. Haces vasculares rodeados de casquetes de fibras. Densidad estomática para la cara abaxial de 188 est/ mm² .

DISCUSIÓN

Los patrones de cambio de la morfoanatomía foliar entre especies se basan en la evolución particular que haya tenido cada grupo o especie según su material genético, así como en dos condiciones ambientales que influyen simultáneamente sobre la diferenciación de la lámina foliar. La primera es la intensidad de la radiación solar a la que está sometida la hoja, definiendo con ello a las hojas de una planta como de sol o de sombra. La segunda es la condición hídrica del ambiente que rodea a la planta y se refleja en los denominados tipos foliares higromorfo, mesomorfo o xeromorfo (Raymundez *et al* 2000, Lindorf *et al.*1985, Roth & Lindorf.1990, Escala *et al*.1993, Lüttge *et al*.1993).

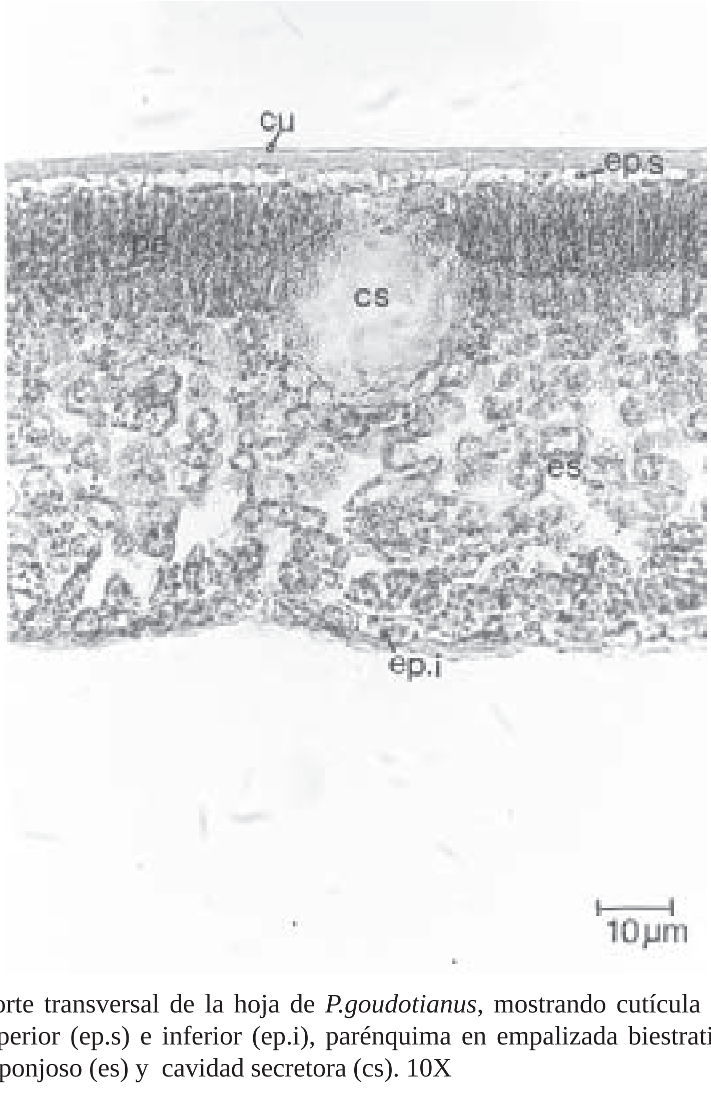

Figura 1. Corte transversal de la hoja de *P.goudotianus*, mostrando cutícula gruesa (cu), epidermis superior (ep.s) e inferior (ep.i), parénquima en empalizada biestratificado (pe), arénquima esponjoso (es) y cavidad secretora (cs). 10X

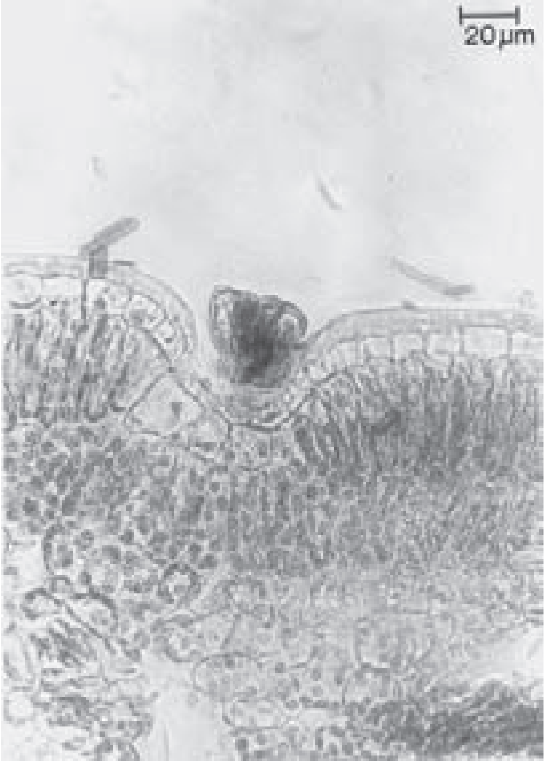

Figura 2. Corte transversal de la hoja de *P.goudotianus*, mostrando glándula externa y tricomas. 20X

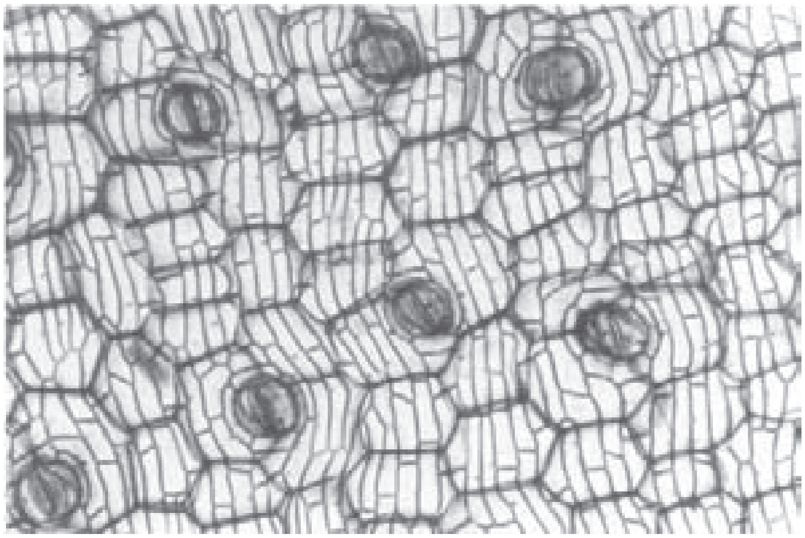

Figura 3. Corte paradérmico de la cara abaxial de la hoja de *P.goudotianus* , mostrando estomas de tipo tetracítico. 20X

Tabla 1. Valores promedio de algunas variables cuantitativas de la hoja de *Pilocarpus goudotianus*. (Rutaceae).

Cultivar	Grosor (µm)				
Pilocarpus goudotianus	Epidermis superior + cutícula	Parénquima empalizada	Parénquima esponjoso	Epidermis inferior	hoja
	4,76	20,2	41,68	4,68	78,84

Los caracteres anatómicos encontrados para la hoja de *Pilocarpus goudotianus* la definen dentro de este marco de ideas como una hoja de sol con rasgos xeromórficos, ya que es una planta que crece a pleno sol, presenta un follaje permanente, con hojas de textura coriácea y superficie adaxial brillante. Desde el punto de vista anatómico se consideran caracteres xeromórficos la cutícula gruesa y el grosor de las paredes de las células epidérmicas, lo cual ha sido propuesto por algunos autores como mecanismos reductores de la transpiración o también de protección contra la luz intensa. Algunas cutículas brillantes tienen la propiedad de reflejar una proporción considerable de luz incidente (Lindorf *et al.*1985).

La plena exposición al sol origina, por lo común la diferenciación morfogenética del mesófilo en forma de aumento del espesor de la lámina foliar, bien por incremento en el número de capas o tamaño de las células del parénquima en empalizada, o por aumento en el espesor del resto del mesófilo, lo cual está considerado por diferentes autores como un carácter xeromorfo (Raymundez *et al*. 2000, Lindorf 1992, 1993, Lüttge *et al*.1993).En *Pilocarpus goudotianus* , el mesófilo se presenta diferenciado en un parénquima en empalizada biestratificado y un parenquima esponjoso bastante desarrollado (Fig.1). Además se encuentran dispersos en el mesófilo, haces vasculares rodeados de un casquete de esclerénquima. La presencia de abundante tejido mecánico se ha asociado en plantas expuestas a estas condiciones ambientales, como medida de protección de los tejidos de la hoja evitando el colapso cuando hay pérdida de agua. La densidad estomática alta por otra parte, también se ha considerado como un carácter indicativo de xeromorfismo, en nuestro caso se observa en *P.goudotianus* una densidad estomática alta en la cara abaxial de la hoja y ausencia de estomas en la cara adaxial.

En pocas ocasiones se han hecho estudios que integren el conocimiento sobre la anatomía ecológica de la madera con información similar de otros órganos de la planta específicamente hojas y raíces (Lindorf 1994,1997a, Michemer 1981, Rury 1981, Rury & Dickison 1984). Los trabajos realizados según esta orientación integradora pretenden determinar para diferentes especies si la presencia de adaptaciones anatómicas al ambiente en una de las partes analizadas excluye su aparición en la otra, o ambas, pueden desarrollar simultaneamente soluciones anatómicas adaptativas para enfrentar el medio (Lindorf 1997b).

En este sentido se puede destacar que las características analizadas para la hoja de *Pilocarpus goudotianus* se correlacionan con las características encontradas para el tallo de esta misma especie previamente publicadas (Hermoso & Escala 1999). En este trabajo se destacan las características xeromórficas presentes en el tallo de *P.*

goudotianus y su relación con el ambiente entre ellas, podemos considerar, vasos numerosos y estrechos, presencia de abundante tejido conductor suplementario constituido por traqueidas, radios parenquimáticos multiseriados que pueden constituir un reservorio de agua para condiciones de déficit hídrico y presencia de tejido esclerenquimático en la corteza interna. De acuerdo con la orientación de los trabajos previamente citados se puede concluir que la especie *Pilocarpus goudotianus*, podría estar desarrollando una solución morfoanatómica xeromórfica simultánea tanto en la hoja como en el tallo, para enfrentarse al medio ambiente donde se localiza.

Desde el punto de vista taxonómico los caracteres anatómicos con valor diagnóstico a nivel de género, coinciden con los reportados en la literatura para el género *Pilocarpus* (Metcalfe & Chalk 1950). Entre éstos cabe mencionar, la presencia de glándulas multicelulares epidérmicas, células epidérmicas con formas hexagonales y pentagonales, canales secretores con contenido de aceites, resinas y alcaloide, paquetes de cristales distribuidos en el mesófilo y tejido vascular rodeado de fibras de escleréquima.

AGRADECIMIENTOS

A la Profesora Marcia Escala por haber creído en el *Pilocarpus* y a la Universidad Central de Venezuela por haberme permitido llevar a cabo dicha investigación.

LITERATURA CITADA

ALBORNOZ, M.A.1980. Productos Naturales. Sustancias y Drogas extraídas de las plantas. Publicaciones. UCV. Caracas. 568p.

ESCALA,M ., N. XENA DE ENRECH ., R. MADRÍZ & H. FARIÑAS. 1993. Morfología floral y anatomía foliar de tres especies de Clusia L, presentes en el parque nacional «Cerro Copey» (Isla de Margarita, Estado Nueva Esparta). Acta Biol.Venez. 14(2): 1-10.

GOODMAN, A.,T.RALL & F. MURAD. 1968. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 7 de Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 1725p.

HERMOSO, L . & M. ESCALA. 1999. Caracterización Anatómica del tallo de *Pilocarpus goudotianus* Tul., (Rutaceae). Anales de Botanica Agricola. 6: 47-49.

HERMOSO, L . 1992. Propagación Vegetativa de *Pilocarpus goudotianus* Tul. (Rutaceae). Tesis de Grado. Escuela de Biología. Facultad de Ciencias.UCV Caracas. 83 p.

JOHANSEN, D.A. 1940. Plant Microtechnique. Mc. Graw-Hill Book Company. New York. London. 523 p.

KAASTRA, R.C. 1982. Pilocarpina (Rutaceae), In: Flora Netrópica Monografia Nº 33. 181p.

LINDORF, H.1992. Anatomía foliar de especies de un bosque húmedo en el Territorio Federal Amazonas, Venezuela. Mem. Soc. Ci. Nat. la Salle (137): 65-91.

LINDORF, H.1993. Blattstruktur von Pflanzen aus einem feuchten Tropenwald in Venezuela. Bot. Jahrb. Syst.115 (1): 45-61.

LINDORF, H.1994. Eco-anatomical wood features of apecies from a very dry tropical forest. IAWA J. 15: 361-376.

LINDORF, H. 1997a. Wood and leaf anatomy in Sessea corymbiflora from an ecological perspective. IAWA J. 18: 157-168.

LINDORF, H. 1997b. Correlaciones Eco-anatómicas entre la madera y la hoja. Memorias del Instituto de Biología Experimental. Ediciones IBE. Vol 1: 209-212.

LINDORF, H ., L DE PARISCA & P. RODRÍGUEZ. 1985. Botánica: Clasificación. Estructura. Reproducción. Ediciones de la Biblioteca. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela

LÜTTGE, U., M. KLUGE & G.BAUER. 1993. Botánica. Mc Graw-Hill-Interamericana, Madrid, España.

METCALFE, C.& L.CHALK. 1950. Anatomy of the Dicotyledons. Vol 1. Oxford , Claredon Press. London .1459 p.

MICHEMER, D.C. 1981. Wood and leaf anatomy of Keckiella (Scrophulariaceae): Ecological Considerations. Aliso 10 : 39-57.

RAYMÚNDEZ, M. B., N. XENA DE ENRECH & M. ESCALA. 2000.Estudios morfoanatómicos foliares en especies del género Hymenocallis Salisb (Amaryllidaceae) presentes en Venezuela relación entre los caracteres morfoanatómicos foliares y el ambiente en el que se desarrollan las plantas. Acta Botanica Venezuelica. 23:69-87.

RODRÍGUEZ, M. 1991. Aislamiento y Determinación de Pilocarpina en especies de Pilocarpus Venezolanas. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. UCV, Caracas. 96 p.

ROTH, I. & H. LINDORF. 1990. Blatt-und Rindenstruktur von *Tepuianthus auyantepuiensis*, Tepuianthaceae, einer neueren Familie aus Venezuela. Bot. Jahrb. Syst. 111 (3): 403-421.

RURY, P.M. 1981. Systematic anatomy of Erythroxylon P. Browne practical and evolutionary implications for the cultivated cocas. J. Ethnopharmacology 3: 229-26

RURY, P.M .& W.C. DICKISON. 1984. Structural correlations among wood, leaves and plant habit. In: White, R.A & Dickison, W.C (eds.), Contemporary problems in plant anatomy. Academic Press, New York, London.

Recibido: 22/06/2001
Aceptado: 21/05/2002